



## Rôle du facteur de transcription « *Odd-skipped-related 1* » (*Osr1*) dans le contrôle de la formation du muscle via le tissu conjonctif.

L'intégration correcte des différents composants de l'appareil locomoteur, i.e. les muscles, les tissus conjonctifs (comprenant les tendons, les ligaments et le tissu conjonctif musculaire) et les éléments du squelette, est critique pour son bon fonctionnement. L'appareil locomoteur nécessite une morphogenèse coordonnée durant laquelle les tissus doivent interagir et communiquer spatialement et temporellement afin de s'organiser correctement. Au niveau des membres, les tissus conjonctifs et les éléments du squelette dérivent du mésoderme de la lame latérale, alors que les cellules myogéniques dérivent des somites. Des travaux embryologiques et génétiques ont démontré que les cellules myogéniques ne sont pas prédéterminées de manière autonome vers certains muscles ou certaines régions des membres. A l'inverse, des signaux extrinsèques vont jouer un rôle instructif pour contrôler la prolifération, la différenciation et la mise en place de ces cellules. Le gène « *Odd-skipped-related 1* » (*Osr1*) code pour un facteur de transcription à doigts de zinc qui est exprimé dans le tissu conjonctif musculaire des membres chez les embryons de poulet et de souris. Le but de ce projet doctoral était d'élucider la fonction autonome non-cellulaire d'OSR1 dans la régulation de la formation des muscles au niveau des membres.

La caractérisation de l'expression d'*Osr1* durant le développement embryonnaire murin a été réalisée grâce à l'utilisation d'une lignée rapporteuse knock-in, contenant l'insertion d'une cassette GFP au niveau du locus d'*Osr1* (*Osr1*<sup>GCE/+</sup>). L'analyse de cette lignée a permis de révéler l'expression d'*Osr1* au sein des cellules mésenchymateuses localisées d'une part au niveau des cellules myogéniques des masses musculaires des membres, et d'autre part à la périphérie des fibres musculaires en développement. Nous avons également démontré qu'*Osr1* n'est jamais exprimé par les cellules myogéniques. Des expériences de traçage cellulaire par le biais du transgène *CreERT2* intégré au niveau du locus d'*Osr1* dans la lignée *Osr1*<sup>GCE/+</sup> a permis de révéler que les cellules exprimant *Osr1* sont des cellules progénitrices de différents types de tissus conjonctifs, tels que le tissu conjonctif musculaire, le tissu conjonctif dermique, les fibroblastes réticulaires pulmonaires, mais aussi des cellules de muscle lisse et étonnamment, du tissu adipeux brun.

Une analyse phénotypique compréhensive des muscles squelettiques par reconstruction 3D et immunohistochimie dans des embryons *Osr1*<sup>GCE/GCE</sup> aux stades E13.5 et E14.5, a révélé des défauts dans la mise en place locale des muscles en

l'absence d'Osr1. Plusieurs muscles des membres semblaient ainsi tronqués, dus vraisemblablement à une incapacité des cellules myogéniques à atteindre leur destination appropriée. Ce phénotype était également accompagné par des fibres musculaires désorganisée et distordues. Une analyse transcriptomique par séquençage d'ARN de cellules Osr1<sup>+</sup>, triées par FACS à partir d'embryons Osr1<sup>GCE/+</sup> et Osr1<sup>GCE/GCE</sup> au stade E13.5, a mis en évidence deux caractéristiques moléculaires majeures causées par la perte de l'activité d'Osr1. Premièrement, Osr1 réprime activement l'expression de gènes associés avec le développement des tendons et du cartilage, suggérant ainsi qu'Osr1 confère une identité aux cellules mésenchymateuses des membres vers le tissu conjonctif musculaire. Deuxièmement, Osr1 régule positivement l'expression de composants de la matrice extracellulaire (MEC) du tissu conjonctif musculaire. En effet, l'expression de gènes liés au collagène était diminuée dans les cellules Osr1<sup>GCE/GCE</sup>. Cette réduction a été confirmée par la suite au niveau protéique par immunohistochimie, révélant une forte perte du Collagène de type 6 (COLVI) chez les embryons Osr1<sup>GCE/GCE</sup>. COLVI est un collagène musculaire majeur et non structurel requis pour la stabilité des fibres musculaires. Le tissu musculaire conjonctif des embryons Osr1<sup>GCE/GCE</sup> était désorganisé et appauvri en fibronectine et en vinculine, soulignant un attachement défectueux des fibres musculaire à la MEC via les adhésions focales. Ceci résulte en une perte de stabilité des fibres musculaires reflétée par une expression réduite des N-cadhérines et une perturbation de la lame basale musculaire.

En plus de la diminution des composant de la MEC, de nombreuses molécules de signalisation et des chimiokines sont significativement sous-régulées dans les cellules des membres Osr1<sup>GCE/GCE</sup> à E13.5. La chimiokine Cxcl12, connues pour être impliquée dans la migration et la maintenance des cellules progénitrices musculaires des membres, était faiblement exprimée par les cellules mutantes pour Osr1 à des stades précoces du développement. De plus, la forme activée de la protéine MAP kinase pERK, connue pour être sous le contrôle du récepteur de CXCL12, CXCR4, était réduite spécifiquement au niveau des masses musculaires des membres, comme démontrée par immunohistochimie. En conséquence, les embryons murins Osr1<sup>GCE/GCE</sup> étaient caractérisés par une localisation anormale des cellules progénitrices musculaires des membres, une prolifération réduite et une apoptose accrue.

Pris ensemble, ces résultats soulignent l'implication fonctionnelle des cellules Osr1<sup>+</sup> résidentes du tissu connectif dans la formation des muscles au niveau des membres au cours du développement embryonnaire chez la souris. Ce travail montre également qu'Osr1 régule la transcription des composants de la MEC dans les tissus

conjonctifs musculaires des membres. Enfin, ceci suggère qu'Osr1 exerce sa fonction à travers des chimiokines et des facteurs sécrétés dans le but d'assurer un développement correct des muscles.